SUMMARY

The dynamics of the immunocompetent cell response and the intensity of creation of antibodies to Marek's disease vaccine on the basis of turkey herpesvirus were studied. The lymphocyte migration inhibition test for determination of antigen-induced migration level (ML) and indirect solid-phase immunosorbent assay for determination of serum antibody titre (T) were used. It was shown that by day 28 the migration level in SPF chicks was ML±G=0,38±0,09 and in commercial broiler chicks it was ML±G=0,13±0,059. Moreover, the antibody mean titre in SPF chicks was 1:190 by day 7 and 1:1445 by day 63. In broiler chicks with the mean titre of transovarian antibodies 1:8590 by day 7 it was demonstrated that the active immune response was induced by day 35 (titre 1:358); by day 56 the titre was equal to 1:2692. Coefficients of correlation (R±m) between lymphocyte migration inhibition test and indirect solid-phase immunosorbent assay were determined and at the phase of the development of active immune response in SPF chicks and broiler chicks they made up 0,814±0,111 and 0,840±0,136, correspondingly.

Литература

1. Гринин, А.С. Очистка, концентрирование и фракционирование вирусов животных / А.С Гринин, И.Н. Титов. М.: Колос, 1971. С. 31-40.
2. Закс, Л. Статистическое оценивание / Л. Закс. М.: Статистика, 1976. 598 с.
3. Зуйкова, И.Н. Спектр цитокиновых дисфункций в генезе рецидивирующей герпесвирусной инфекции. Пути коррекции: автореф. дис… канд. мед. наук / И.Н. Зуйкова. М., 2007. 34 с.
4. Иммунологические методы / под ред. Г. Фримеля. М.: Медицина, 1987. С. 308-311.
5. Мисюк, Н.С. Корреляционно-регрессионный анализ / Н.С. Мисюк, А.С. Мастыкин, Г.П. Кузнецов. М.: Медицина, 1975. 192 с.
6. Оценка способности миграции лейкоцитов in vitro и продукции фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов крови у человека: метод. рекомендации / Т.Н. Крымкина, Л.В. Ганковская, Е.В. Соколова [и др.]. М., 1983. 43 с.
7. Плохинский, Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский. М.: Изд-во МГУ, 1970. 367 с.
8. Поллард, Дж. Справочник по вычислительным методам статистики / Дж. Поллард. М.: Финансы и статистика, 1982. 344 с.
9. Тихоненко, Т.И. Методические основы биохимии вирусов / Т.И. Тихоненко. М.: Медицина, 1973. С. 219-222.
10. Crowther, J.R. ELISA. Theory and practice. // Methods in Molecular Biology. Totowa, New Jersey, 1995. Vol. 64. P. 161-176.
11. Enzime immunoassay in diagnostic medical virology / E. Kurstak, P. Tijssen, C. Kurstak, R. Morisset // Bull. FAO. 1986. Vol. 64, № 3. P. 465-479.
12. Kemeny, D.M. An introduction to ELISA / D.M. Kemeny, S. Chantler // ELISA and Other Solid Phase Immunoassays. Chichester ets., 1988. P. 3-5.
13. Marek,s disease. An evolving problem / Ed. by F. Davison and V. Nair. London, Elsevier Acad. Press., 2004. 212 P.

УДК: 619:579.835:636.8

Э.И. Элизбарашвили, М.М. Рахманина, В.И. Уласов

ФГУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГУ ВГНКИ)

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА У КОШЕК ПРИ СПОНТАННОМ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ

Инфекционный риинотрахеит кошек (ИРК) (Rhinotracheitis infectiosa feline) высококонтагиозная болезнь животных семейства кошачьих.

Впервые заболевание было установлено в США в 1957 году в группе котят 5–10-недельного возраста с признаками поражения респираторного тракта [3]. В России вирус инфекционного ринотрахеита кошек впервые был выделен нами в 1995 г. Установлена его роль в этиологии болезни [1].

Одной из задач, поставленных нами при многолетнем изучении особенностей проявлений этой инфекции – выявление зависимости тех или иных клинических признаков болезни от штамма (изолята) вируса.

Материалы и методы

Работа выполнялась в период с 1995 по 2008 год. Эпизоотический анализ, клинические исследования проводили на базе 9 ветеринарных клиник и 14 питомников кошек и зоопитомников городов Москвы, Волоколамска, Владимира, Дмитрова, Вязьмы, Одинцова, а также ОПХ «Манихино».

При клиническом обследовании более 200 животных учитывали анамнестические данные vitae (пол, возраст, условия содержания животных, наличие контактов и т.д.) и morbi (сроки наступления, порядок и характер проявления болезни)

Для выделения изолятов вируса ринотрахеита нами было использовано более 300 проб клинического и секционного материала, полученного от больных и павших кошек, а также проб клинического материала от 6 манулов 2–6-месячного возраста [2].

Материалом для лабораторного исследования служили назальные, конъюнктивальные и ротоглоточные смывы, соскобы с изъязвленных участков слизистых оболочек ротовой полости, кровь, фекалии, моча от больных, а также пробы трахеальной и легочной слизи и секционный материал (кусочки трахеи, легких, селезенки) от павших кошек.

Микрофильтраты проб клинического материала использовали для заражения культур клеток CrFK (перевиваемая культура клеток почки котенка). Изоляты вирусов идентифицировали в РН (реакции нейтрализации) со специфической сывороткой, полученной из Франции. Ту же реакцию использовали для диагностики болезни. Путем электронной микроскопии подтверждали морфологическое соответствие выделенных изолятов герпесвирусу.

Для определения вариабельности симптоматики и остроты клинических проявлений болезни анализировались данные наших многолетних исследований, при которых кошки с той или иной целью (контрольное заражение при проверке иммуногенности вакцин, терапевтических препаратов и т.д.) подвергались инфицированию вирусом ИРК.

Экспериментальное заражение котят 2–6-месячного возраста с различным иммунным статусом проводили выделенными нами штамом вируса ринотрахеита кошек «Гранд» и 4 изолятами вируса.

Все использованные для заражения котят изоляты вируса ИРК и штамм «Гранд» были получены в культурах клеток CrFK, имели одинаковую активность (6,5 lg ТЦД50/см^3) и вводились каждому животному назально в объеме 1,0 см^3. Наблюдение за животными продолжали в течение 6 месяцев. Сравнивали клинические проявления болезни при спонтанном заражении кошек – источников выделения изолятов (штамма) вируса с таковой при экспериментальном воспроизведении инфекции.

Результаты исследований.

Анализ клинических проявлений инфекционного ринотрахеита у спонтанно заразившихся животных показал, что острому течению болезни, наблюдавшемуся, как правило, у молодых животных, сопутствовали депрессия и лихорадка. Одним из наиболее ранних симптомов (в 80-90% случаев) являлся одно- или двухсторонний конъюнктивит и обычно сопутствующий ему ринит. У котят до 6-месячного возраста прозрачные конъюнктивальные и назальные выделения в начале болезни на 4-5 день становились слизистыми или слизисто-гнойными и вызывали слипание век и закупоривание ноздрей при высыхании на них гноя. При этом носовое дыхание было затрудненным, а конъюнктивальные истечения часто вызывали блефарит и алопецию век. В единичных случаях наблюдали гиперпигментацию роговицы и кератит. Наблюдали кашель, чихание, часто отмечали саливацию, ульцерацию языка. Гортань, миндалины и глотка при этом были отекшими и покрасневшими.

Приблизительно в 25% случаев при остром течении болезни наблюдали образование изъязвлений на слизистой ротовой полости и языка. Изъязвления, как правило, локализовались в глотке, реже – в дорсальной части языка. Язвенный стоматит сопровождался обильной саливацией, но всегда имел доброкачественное течение: заживление язв происходило в течение нескольких дней. Нередко язвы обнаруживались на веках и губах кошек.

У взрослых животных инфекционный ринотрахеит чаще имел хроническое течение, при котором обычно наблюдали двухсторонний серозный конъюнктивит и ринит, трахеобронхит. У некоторых (около 30-35%) кошек поражались нижние отделы дыхательных путей – отмечали пневмонию, а иногда и плеврит. Поражение ЦНС выражавшееся судорогами и парезами и аборты у беременных животных диагностировали в единичных случаях, однако альтернативные причины этой патологии не уточнялись.

В 2000 г. в зоопитомнике была отмечена заболеваемость и падеж манулов от 2-х до 6-месячного возраста с характерными для инфекционного ринотрахеита поражениями респираторного тракта. У обследованных нами манулов заболевание сопровождалось депрессией, анорексией. У всех животных первыми клиническими признаками явились: гнойный конъюнктивит, ринит, трахеит, слизистые истечения из носа и глаз, чихание. Эти признаки дополнялись одышкой. У некоторых животных наблюдали признаки пневмонии. В целом клинические проявления болезни у манулов и домашних кошек были идентичными. Из шести заболевших – два пали. При вскры-

Таблица 1

Течение инфекционного ринотрахеита у кошек разного возраста в неблагополучных питомниках

Течение болезни	Кол-во обследованных животных		Возраст
	количество	%	
Острое	18 6	8,2 2,8	до 1 года 1,5 года
Подострое	16 19 14	7,3 8,7 6,4	3 мес. 1-2 года Старше 2 лет
Хроническое	32 39	14,7 17,9	1-2 года Старше 2 лет
Латентное	8 20 46	3,7 9,2 21,1	До 1 года 1-2 года Старше 2 лет
Итого	218	100	-

Таблица 2

Происхождение изолятов вируса инфекционного ринотрахеита кошек.

Номер изолята ИРК	Год выделения	Откуда получен материал	Сведения о животном (пол, порода, возраст)	Течение болезни	Клинические признаки болезни
№1* (штамм «Гранд»)	1995	г. Москва	Кошка, русская голубая, 3 мес.	Острое	Конъюнктивит, ринит, ларинготрахеит, язвенный стоматит
№2	1997	г. Владимир	Кошка, ориентальная, 10 мес.	Подострое	Конъюнктивит, ринит, язвенный блефарит, стоматит, аборт
№3	1998	г. Истра	Кошка, сиамская, 2 мес.	Острое	Конъюнктивит, ринит
№4	1999	г. Одинцово	Кот, беспородный, 2 года.	Хроническое	Конъюнктивит, ринит, бронхопневмония, кахексия, судороги
№5	2000	г. Волоколамск	Манул, самец, 3 мес.	Острое	Гнойный конъюнктивит, ринит.

Примечание: * - в дальнейшем депонирован.

тии отмечали цианоз слизистой оболочки рта, скопление экссудата в носовых ходах (или на видимых слизистых оболочках). На слизистой оболочке гортани и трахеи были выявлены признаки катарального, экссудативного, фиброзного воспаления, кровоизлияния.

При изучении течения и характера клинических проявлений у кошек разного возраста при различных условиях содержания было установлено, что острота проявлений болезни у животных при индивидуальном и скученном содержании различна. В первом случае инфекция протекала преимущественно остро. Без ветеринарной помощи животные погибали в течение 4-8 суток. При назначении специфических сывороток или глобулинов, антибиотиков и проведении симптоматического лечения клиническое выздоровление наступало на 8-9 сутки. Однако, в дальнейшем в подавляющем большинстве случаев, наблюдали рецидивы болезни, возникавшие при воздействии стрессовых факторов (переохлаждение, перевозки, голодание и др.) в течение 3-5 лет (срок наблюдения). У кошек, содержащихся в питомниках, болезнь чаще всего протекала хронически и латентно (табл. 1).

Хроническое течение болезни проявлялось умеренно выраженным серозно-гнойным конъюнктивитом и ринитом, бронхитом, сопровождавшимся истечениями из глаз и носа, чиханием и кашлем. Проводимое неспецифическое лечение с использованием антибиотиков, иммуностимуляторов и различных симптоматических препаратов было неэффективным или вызывало только кратковременное улучшение состояния животных. В тех питомниках, где владельцы проводили лечение кошек, мы часто наблюдали латентное те-

Таблица 3

Клиническое проявление и исход инфекционного ринотрахеита у экспериментально зараженных кошек

Показатели		Номера изолятов герпесвируса кошек						
		№1 Гранд	№2	№3	№4	№5	Частота признака	
							кол-во	(%)
Количество зараженных котят		27	26	25	22	22	122	-
Количество заболевших котят		19	12	14	13	12	70	100
Клинические признаки	Лихорадка	18	13	11	11	10	63	90
	Депрессия	19	10	12	10	9	60	85,7
	Анорексия	19	9	10	6	7	51	72,3
	Чихание	17	7	10	7	6	47	67,1
	Слюнотечение	7	1	3	5	4	20	28,6
	Конъюнктивит	19	11	12	9	10	61	87,1
	Ринит	16	10	9	11	12	58	82,9
	Язвенный стоматит	6	0	2	3	4	15	21,4
	Трахеит, бронхит	11	0	5	6	3	25	35,7
	Пневмония	1	5	5	0	4	15	21,4
	Плеврит	3	0	0	1	1	5	7,1
Исход	Выздоровление	0	0	3	3	3	9	12,9
	Хронич.течение, вирусовыделение	6	6	7	5	5	29	41,4
	Летальный исход	13	6	4	5	4	32	45,7

чение болезни с периодическими ее рецидивами, проявлявшимися возобновлением клинических симптомов, особенно у новорожденных или вновь поступивших животных.

В период с 1995 по 2000 год нами было выделено 5 изолятов вируса инфекционного ринотрахеита (один из них в дальнейшем был охарактеризован и депонирован как штамм «Гранд») от кошек и манулов. Острота клинических проявлений болезни у этих животных была различной. Комплекс симптомов, связанных с поражением респираторного тракта, у некоторых из них дополнялся признаками поражения центральной нервной системы, стоматитом, язвенным блефаритом и др. (табл. 2).

С целью сравнения клинической картины болезни, вызванной разными изолятами вируса при спонтанном и экспериментальном инфицировании нами произведено заражение котят. Перед заражением животных для определения «защитного» уровня антител брали кровь для исследования в РН. До опыта смывы из глотки и конъюнктивы исследовали для исключения носительства герпесвируса.

Штамм «Гранд» и изоляты вируса активностью 6,5 lg ТЦД50/см^3 были введены каждому животному назально в объеме 1,0 см^3. Наблюдение за животными продолжали в течение 6 месяцев. Клинический материал от всех подвергнутых заражению котят исследовали в РН, подтверждая этиологию болезни. Титрованием в культуре клеток CrFK изучали динамику интенсивности выделения вируса. Сопоставляли полученные результаты с изменениями клинического состояния животных.

В начале заболевания при остром течении болезни у всех животных наблюдали депрессию, отказ от корма и воды, субфебрильную лихорадку. Наиболее ранними симптомами болезни, наблюдавшимися при заражении каждым из изолятов вируса (как и при спонтанном заражении), являлись слезотечение, сильное чихание и кашель. Иногда отмечали усиленное слюнотечение. В дальнейшем у всех животных развивался серозный конъюнктивит с серозными выделениями из глаз и носа, который мог быть как одно-, так и двухсторонним. Этим признакам обычно сопутствовал блефарит, а также серозный или гнойный ринит.

Болезнь у всех кошек (как спонтанно

заболевших, так и экспериментально зараженных) всегда характеризовалась признаками поражения глаз и респираторного тракта разной степени тяжести. В то же время некоторые симптомы, наблюдавшиеся у спонтанно заболевших животных, не проявлялись у кошек зараженных тем же изолятом вируса и наоборот (табл. 3).

У некоторых кошек независимо от использованного для заражения изолята (штамма) вируса диагностировали катаральный трахеит, бронхит, переходящий в пневмонию, а иногда плеврит. У других животных, зараженных теми же штаммами вируса, поражений нижних отделов респираторного тракта не отмечали.

Течение болезни у интактных котят было преимущественно острым. Через 7-12 суток у них, как правило, регистрировали летальный исход. Острое течение болезни у 29 котят сменилось хроническим, при этом животные в течение нескольких месяцев были угнетены, слабо выраженный ринит и конъюнктивит сопровождался чиханием, умеренными серозными или гнойными истечениями из глаз. Периоды ремиссий сменялись рецидивами.

Анорексия и хроническое воспаление нижних отделов дыхательных путей некоторых котят при хроническом течении болезни вело к кахексии. В таком состоянии животные находились в течение всего периода опыта (6 месяцев).

Клиническое выздоровление отмечали у 9 котят. Еженедельное исследование проб клинического материала от всех животных (конъюнктивальные и ротоглоточные смывы) путем заражения культуры клеток CrFK и постановке РН показало, что герпесвирус постоянно выделялся на протяжении опытного периода от всех 29 котят с хроническим течением инфекции и у 5 из 9 клинически выздоровевших после заражения изолятами вируса №3, 4, 5.

Представленные данные свидетельствовали о том, что почти у всех зараженных котят наблюдались лихорадка, депрессия и анорексия (90%; 85,7% и 72,3% соответственно). Конъюнктивит, ринит, чихание и слюнотечение являлись наиболее частыми признаками болезни (87,1%; 82,9%; 67,1% и 28,6% соответственно). Язвенный стоматит отмечали у 21,4% заболевших животных, поражение бронхов и трахеи – у 35,7% (причем, 11 из 25 котят с этим симптомом были заражены изолятом №1), легких и плевры – у 21,4% и 7,1% соответственно.

Клиническое выздоровление с прекращением элиминации вируса в течение первых трех месяцев зарегистрировано только у 4 котят. У 29 котят болезнь приняла хроническое течение, 32 котенка пали, при этом, 13 из них были инфицированы изолятом вируса ИРК №1 («Гранд»).

Нами был сопоставлен характер клинических признаков, наблюдавшихся при спонтанном заражении животных с данными, полученными при экспериментальном заражении.

Клинические признаки болезни всегда были связаны с поражением конъюнктивы, слизистой оболочки ротовой полости и респираторного тракта, проявлявшихся в различной степени тяжести. Конъюнктивит, ринит, а также неспецифические признаки болезни (лихорадку, депрессию, анорексию, чихание, слюнотечение), отмечали у всех кошек.

При заражении изолятами вируса № 3, 4, 5, и штаммом «Гранд» у некоторых (не у всех!) кошек наблюдали образование изъязвлений на слизистой оболочке ротовой полости и языка, деснах, твердом небе. У спонтанно заразившихся кошек, болезнь у которых была вызвана теми же изолятами, изъязвления зафиксированы только у кошки – источника выделения штамма «Гранд». В то же время изолят №2 не вызвал ни у одной из экспериментально зараженных кошек образования язв, при том, что был выделен от кошки с язвенным блефаритом и стоматитом.

Несмотря на схожесть основных клинических проявлений в целом, прослеживалась некоторая зависимость тех или иных признаков болезни от использованного для заражения изолята вируса. Так, при заражении котят изолятом №2 ни разу не зарегистрировали развития плеврита, язвенного стоматита, трахеобронхита, а при заражении изолятами №3 и №4 – пневмонии и плеврита соответственно.

У экспериментально зараженных животных не всегда наблюдали те же признаки болезни, что и у спонтанно заразившегося животного – источника получения изолята. Так, ни в одном случае при экспериментальном заражении не наблюдали поражения ЦНС (судорог, парезов и абортов) у зараженных беременных животных. Различия касались также степени выраженности и остроты проявлений симптомов.

Выводы

1. Установлено, что клинические признаки инфекционного ринотрахеита ко-

шек при спонтанном заражении и экспериментальном воспроизведении всегда характеризуются: лихорадкой, депрессией, анорексией, конъюнктивитом, признаками поражения респираторного тракта разной степени тяжести. Отличия касались степени выраженности симптомов, остроты проявлений болезни, отсутствия или наличия признаков поражения ЦНС, абортов, изъязвлений ротовой полости и др.

2. Острота проявления болезни зависит от возраста и условий содержания животных. У кошек при изолированном содержании чаще регистрировали острое, реже подострое течение болезни, у животных питомников – хроническое и латентное.

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты изучения клинических проявлений инфекционного ринотрахеита у кошек при их спонтанном и экспериментальном заражении. Установлено, что клинические признаки инфекционного ринотрахеита кошек при спонтанном заражении и экспериментальном воспроизведении всегда характеризовались: лихорадкой, депрессией, анорексией, конъюнктивитом, признаками поражения респираторного тракта разной степени тяжести. Отличия касались степени выраженности симптомов и отсутствием или наличием изъязвлений ротовой полости, поражения ЦНС, абортов и др.

Литература

1. Элизбарашвили.Э.И., Рахманина М. М., Уласов В. И., Могильный Ю. И. Ринотрахеит кошек.// ж. Ветеринария. 1995. 9. С. 50-52.
2. Элизбарашвили Э. И. Герпесвирусная инфекция у манулов. // Мат. 4 рег., конф. « Золотое кольцо России», г. Владимир. 2001. С. 60.
3. Crandell R. A., Maurer F. D. Isolation of a feline virus associated with intranuklear inclusion bodies //Proc. Soc. Exp. Biol. and. Med. 1958. 97. P. 487-490.